

استجابة نباتات القطن للتلقيح البكتيري *Pseudomonas fluorescens*

إياد عبد الواحد إهيتي

صبا باقر عبد الجبوري

علي إبراهيم حمادي

قسم وقاية النبات / كلية الزراعة - جامعة بغداد

المستخلص

تم الكشف عن استجابة فيسيولوجية وبيوكيميائية ومظهرية لنباتات القطن الملقحة بالبكتيريا *P. fluorescens* اختلفت معنوياً عن النباتات غير الملقحة. فقد وجد ان تلقيح نباتات القطن بالبكتيريا قد عمل على تحفيز النبات على إنتاج الفايكوالكسين وزيادة في محتوى الأوراق من البروتين ، أساساً من الناحية المظهرية فقد وجد ان المعاملة بالبكتيريا أدى إلى زيادة معنوية في كل من الوزن الرطب والجاف للمجموع الجذري والخصري ناتجة عن زيادة معنوية في عدد الأوراق وعدد تفرعات الجذر ، وقد انعكس ذلك على زيادة معنوية في معدل عدد الجوز لنبات الواحد ووزن الجوزة فكانت 9.4 جوزة / نبات في معاملة اللقاح البكتيري وبمعدل وزن 4.7 غم /جوزة مقارنة بـ 6.1 جوزة /نبات و 3.7 غم /جوزة في نباتات المقارنة وزيادة معنوية في وزن زهر القطن حيث بلغ الحاصل 225.6 غم / م² في معاملة اللقاح البكتيري و 130.1 غم / م² في معاملة المقارنة

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 36(3) : 63 - 68, 2005

Hammadi et al.

Response of Cotton plant to bacterial Inoculation (*Pseudomonas fluorescens*)

A. I. Hammadi

S. B. Al-Juboory

Ayad A. Al-Heeti

Plant Protection Department - Agriculture College - University of Baghdad

ABSTRACT

This study was showed that cotton plant bacterized with *Pseudomonas fluorescens* were significantly induced physiological biochemical and morphological response compared to the control . Firstly phytoalexin compound (s) was only induced in the bacterized plant as spectrophotometric determined.

Secondly the bacterized plants had higher total protein content over that of non bacterized. In addition, morphologically the bacterized plants were found to have higher leaf number and wet and dry weight of both foliage and roots system.

It's a consequence of such response , the bacterized plants gave significantly higher boll number (9.4 boll/plant) and boll weight (7.4 g/boll) over that of non bacterized (6.1 boll) plant and (3.7g/boll) Hence the total cotton yield of bacterized plant was significantly higher (225.6 g/m²) than that of the control (130.1 g/m²).

المقدمة

بها Rhizosphere تأثيراً بإفرازات الجذور . وقد وجد لهذه التداخلات اثر في استيطان مسببات الأمراض (10 و 17).

تحتوي التربة عددا كبيرا من الأحياء الدقيقة تؤثر وتتأثر ببعضها بأنواع مختلفة من العلاقات ومن الملفات للنظر نشاط مثل هذه التداخلات بين الأحياء على سطوح جذور النباتات Rhizoplane والمنطقة المتأثرة

*تاريخ استلام البحث 2002/4/7 ، تاريخ قبول البحث 2005/5/15

البحث ممثل من رسالة ماجستير للباحث الثاني .

(*)Part of M.Sc. thesis for the second author.

معدل وزن النباتات 2289 غم ومعدل وزن الحاصل 181.6 غم / نبات لذلك استخدمت الدراسة الحالية لتقويم تأثير المعاملة بالـ *P. fluorescens* في نباتات القطن أولاً كعامل محفز للمقاومة ضد مرض الخنثاق وثانياً التعرف على تأثير التلقيح بهذه البكتيريا في بعض الصفات المظهرية والإنتاجية للنبات .

المواد وطرائق العمل

1- حث نباتات القطن لتكوين مركبات الفايثوأكسين .
أخذت 100 بذرة قطن كوكو 310 وتم تعريضها للنار ولمدة نصف دقيقة لإزالة الزغيب (4) وبعدها نعتت في الماء لمدة 24 ساعة ثم زرعت في عشر أصص فخارية قطر 25 سم وعمق 30 سم حاوية على تربة مزيجية معقمة باليزمبايد المحبب (30غم/م³) . زرعت البذور بواقع عشرة بذور لكل أصيص وسقيت ، وبعد مرور أسبوعين عوملت نباتات خمسة أصص باللقاح البكتيري *P. fluorescens* 4 × 10⁷ وحدة تكوين مستعمرة / مل ، رشاً على الأوراق بواسطة مرشحة يدوية لحد البلب مع إضافة 100 مل / أصيص من المعلق البكتيري إلى التربة وتركب الأصص الخمسة الأخرى في أكياس نايلون لكل معاملة لأغراض التحليل والكشف حسب طريقة Keen و Kennedy (12) باستعمال جهاز المطياف الضوئي LKB 4050 Bochrom Ultraspac Model وعلى الطول الموجي (285) نانوميتر .

2- المحتوى البروتيني في النباتات المعاملة .

جمعت أوراق من نباتات القطن من الحقل بعد خمسة أشهر من الزراعة للنباتات المعاملة بالـ *P. fluorescens* للمعالجة ج والنباتات غير المعاملة للمعاملة أ ، جففت الأوراق بنشرها في المختبر وسحقت بواسطة مجرشة من نوع Milly Mill Standard Model No.3 Arther co. ثم وضع المسحوق لكل معاملة في كيس (نايلون) وحفظ للتحليل .
تم وزن 0.2 غم من مسحوق الأوراق لكلا المتعاملتين وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة ثم هضمت العينات بالطريقة الرطبة وباستخدام حامض الكبريتيك وحامض البيروكلوريك وحسب الطريقة المتبعة من قبل Cresser و Parsons (9) ومن ثم قدرت فيها النسبة المئوية للنيتروجين الكلي (8) .

إذا جرت محاولات ناجحة لتشيط مجاميع من الأحياء الدقيقة في منطقة الجذور لمقاومة مسببات أمراض النبات . وقد حضيت أنواع البكتيريا *P. fluorescens* ، *putida* بفعالية لمقاومة مسببات الأمراض النباتية فضلاً عن الكشف بفاعلية هذين النوعين في زيادة معنوية في نمو وإنتاجية عدد من المحاصيل الزراعية ، حيث فسرت زيادة نمو وإنتاجية النباتات المعاملة بعدة آليات منها المقاومة للمسببات المرضية أو إنتاج مركبات معقدة تقلل من جاهزية الحديد ، أو تحفيز المقاومة الجهازية وتأثيراتها الهرمونية المحفزة لنمو النبات (16) حيث وجد Burr وآخرون (7) أن المعاملة بهذه البكتيريا قد أدت إلى زيادة في النمو الخضري للبطاطا بنسبة 500% في البيت الزجاجي وزيادة الحاصل في الحقل بنسبة 17% . وفي دراسة أخرى وجد أن البكتيريا قد سببت زيادة حاصـل البطاطا بنسبة 33% في الحقل .

ووجد Schroth و Hancock (17) أن البكتيريا *P. fluorescens* سببت زيادة في الحاصل البنجر السكري بمقدار 7.9 طن / أكر وأشار Gamliel و Katan (10) أن عدداً من السلالات التابعة لبكتيريا *P. fluorescens* سببت زيادة في نمو نباتات الطماطة في التربة غير المعقمة بنسبة 65-80% من الوزن الجاف للنباتات في حين كانت غير مؤثرة في التربة المعقمة . وفي العراق وجد الهيتي وآخرون (3) أن معاملة الرز (صنف عنبر 33) بالبكتيريا في الحقل وبطريقتي إضافة اللقاح إلى الحبوب وإلى التربة قبل الزراعة قد أظهر تأثيراً معنوياً في محصول الرز تمثل بزيادة في طول النبات وعدد التفرعات وطول السورة وعدد الحبوب لكل نورة والوزن الجاف للجذور وقد انعكس ذلك على زيادة معنوية في الحاصل مقارنة بمعاملة السيطرة حيث كانت الزيادة 75% و 50% للموسم 1990-1991 ، 78% و 52% للموسم 1991-1992 لمعاملة إضافة اللقاح إلى الحبوب وإلى التربة على التوالي .

وفي دراسة أخرى وجد أن إضافة البكتيريا *P. fluorescens* إلى نباتات فستق الحقل في مرحلتتي الباردة والتهير قد سببت زيادة معنوية في معدل الوزن الجاف للنباتات 460 غم / نبات ومعدل وزن الحاصل 333 غم / نبات مقارنة بمعاملة المقارنة التي بلغت بها

ومن حاصل ضرب النسبة المئوية للنسبوتوجين في معادلة التحويل (6.25) ، تم حساب النسبة المئوية للبروتين في الأوراق (15).

3- بعض معايير النمو الإنتاجية

نفذت تجربة حقلية بكلية الزراعة - أبي غريب على صنف كوكثر 310 وفق تصميم القطاعات التامة العشوائية (RCBD) وبثلاث مكررات للمعاملات : أ.بنور غير معاملة (المقارنة) .

ب. بنور معاملة بالبكتيريا *P. fluorescens* (4 × 10⁷ وحدة تكوين مستعمرة / مل) بالنقع .

تم زراعة البنور بعد المعاملة في جور المسافة بين جورة وأخرى 25 سم وبواقع 5 بنور /جورة وعلى مروز وبمعدل 5 جوز/مروز ، طول الممرز 150 سم والمسافة بين مرز وآخر 80 سم وبمعدل 4 مرز /معاملة (4) .

أضيف اللقاح البكتيري *P. fluorescens* (4 × 10⁷ وحدة تكوين مستعمرة / مل) وبواقع 100 مل /نبات للمعامل (20) رشاً على التربة المحيطة بقاعدة النبات . وفي مرحلتَي البادرة وعند التزهير تم إجراء عملية الخف بعد مرور ثلاثة أسابيع من الزراعة بعد ترك نباتين لكل جورة وأجريت عمليات التسميد والري حسب التوصيات وزارة الزراعة والري (5) .

قلعت خمس نباتات بصورة عشوائية والمعاملين ونلتك لدراسة بعض الصفات والتي تضمنت مايلي :

1. طول النبات وطول الجذر .
2. عدد فروع الجذور .
3. عدد الأوراق .
4. الوزن الرطب للمجموع الخضري والجذري .
5. الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري بوضع كل من المجموع الخضري والجذري وبعد فصلهما داخل أكياس ورقية وجففت بواسطة الفرن الكهربائي بدرجة 70 ولمدة 48 ساعة وبعدها تم حساب الوزن الجاف . عند النضج جني حاصل القطن من الممرزين الوسطية لكل معاملة مع استبعاد الممرزين الطرفيين ونباتات الجور الطرفية كما تم جني الحاصل مرة أخرى بعد مرور شهر على الجنية الأولى وقد تم اخذ البيانات التالية لكل جنية بالإضافة إلى مجموع وزن الجنتين وهي :

1. عدد الجوز المتفتح لكل نبات . تم حسابه من مجموع الجوزات السليمة والمتفتحة كمعدل لعشرة نباتات .

2. وزن الجوزة /معدل لعشرة نباتات .

3. حاصل القطن الزهر . تم حساب حاصل القطن الزهر بعد الجنية الأولى والثانية بالإضافة إلى حساب

مجموع حاصل الجنتين على أساس المتر المربع .

خللت النتائج احصائياً وتمت مقارنة متوسطات

المعاملات بحسب اختبار دنكن المتعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 % (2) .

النتائج والمناقشة

بينت النتائج اختلافات واضحة في محتوى

مستخلص أوراق بين النباتات المعاملة بالبكتيريا *P. fluorescens* وغير المعاملة من محتواها من المركبات

الفايتوكسين كما أظهرتها تقديرات المطاف الضوئي حيث كانت 1.678 في أوراق النباتات المعاملة و

1.397 لأوراق غير المعاملة باللقاح البكتيري وهذا يؤكد نتائج دراسات سابقة خلصت إلى إن التفقيح بأنواع

الب *Pseudomonas* يعمل على تحفيز النباتات المعاملة بها لتكوين مركبات الفايتوكسين (12 و 13) والتي قد

تعود إليها المقاومة الجهازية المستحدثة (Induce Systemic Resistance) (14) . فضلاً عن وجود

اختلافات في النسبة المئوية للبروتين في مستخلص النباتات الملقحة بالبكتيريا وغير الملقحة حيث كانت

16.56 % في النباتات المعاملة 12.31 % في النباتات غير المعاملة ، وقد يعود السبب إلى إن إضافة اللقاح

البكتيري إلى النباتات قد حفز النباتات على امتصاص أعلى للمركبات النايتروجين وهذا ما أكدته بحوث

ودراسات سابقة كرون وبعض أنواع الجنس *Pseudomonas* تتبع مجموعة (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (PGPR) مما سببت

زيادة في محتوى النيتروجين في النبات والذي يعد تأثيراً مباشراً لهذه المجموعة بشكل عام (6 و 11) .

فضلاً عن ذلك أوضحت نتائج الاختبار الحقلية وجود تأثير معنوي للقاح البكتيري في جميع صفات

المجموع الخضري والجذري لنباتات القطن التي تم دراستها ، حيث تفوقت معاملة اللقاح البكتيري من حيث

معدل عدد فروع الجذر (12.4) وطول الجذر (25.20) والوزن الرطب (29.96) والوزن الجاف (6.31) للمجموع الجذري على معاملة السيطرة والتسبي

بلغت 11.4 و 20.93 و 15.47 و 4.23 على التوالي (جدول 1) .

البكتيري في معدل حاصل القطن الزهر للمستر المربع الواحد لحاصل مجموع الجينيتين والذي بلغ 225.6 غم / م² مقارنة بـ 130.1 غم / م² (جدول 3) .

استنادا إلى النتائج أعلاه فإن تلقح نباتات القطن بـ *P. fluorescens* كان ذو كفاءة في زيادة معدلات صفات المجموع الخضري والجذري وصفات الحاصل المختلفة لنباتات القطن المزروعة تحت ظروف الحقل وقد يرجع سبب ذلك لأن البكتيريا المستخدمة في الحقل تعود لأحدى مجاميع البكتيريا المحفزة للنمو (PGPR) (16) . وقد انعكست زيادة مواصفات النمو على زيادة معنوية الحاصل وهذه النتيجة تتفق مع عدد من البحوث التي تشير إلى قدرة بكتيريا *P. fluorescens* إلى زيادة معدلات الحاصل ولعدد من المحاصيل الزراعية المهمة (1 ، 3 ، 7 ، 17 ، 18 ، 19) .

وعند مقارنة تأثير اللقاح البكتيري على صفة معدل عدد أوراق وطول النبات والوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري للنبات الواحد بمعاملة المقارنة وجد كذلك تفوق معاملة اللقاح البكتيري بزيادة بلغت 136.86 و 87.70 و 328.86 و 64.97 مقارنة بـ 96.40 و 69.25 و 131.64 و 39.17 على التوالي .

كما وجد أن اللقاح البكتيري تأثيرا على صفات الحاصل المدروسة بفروقات مهمة احصائياً في كل من معدل وزن الجوزة الواحدة (4.7 غم) لحاصل الجينة الأولى على معاملة المقارنة (3.6 غم) في حين لم يكن هناك فرق في معدل وزن الجوزة لحاصل الجينة الثانية وكذلك تفوقت معاملة اللقاح البكتيري في معدل عدد الجوز لكل نبات لحاصل الجينة الأولى (6.4 غم) ومجموع الجينتين (9.5 غم) مقارنة بـ (3.6 غم) و (6.1 غم) على التوالي . كما تفوقت معاملة اللقاح

جدول 1. : أثر المعاملة بـ *Pseudomonas fluorescens* على معدلات بعض صفات الجذور لنباتات القطن .

المعاملة	عدد تقرعات الجذور	طول الجذر (سم/نبات)	الوزن الرطب للمجموع الجذري (غم/نبات)	الوزن الجاف للمجموع الجذري (غم/نبات)
المقارنة	11.4 أ	20.93 ب	15.47 ب	4.23 ب
اللقاح البكتيري <i>P. fluorescens</i>	12.4 أ	25.20 أ	29.96 أ	6.31 أ

* كل قيمة في الجدول تمثل معدل ثلاث مكررات .

** القيمة المتبوعة بحروف متشابهة بالعمود الواحد لا تختلف معنوياً حسب لنكن عند مستوى احتمال 0.05 .

جدول 2. : أثر المعاملة بـ *Pseudomonas fluorescens* على معدلات بعض صفات الجزء الخضري لنباتات القطن

المعاملة	معدل عدد الأوراق	معدل طول النبات (سم)	معدل الوزن الرطب للمجموع الخضري (غم/نبات)	معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم/نبات)
المقارنة	96.40 ب	69.25 ب	131.64 ب	39.17 ب
اللقاح البكتيري <i>P. fluorescens</i>	136.86 أ	87.70 أ	328.86 أ	64.97 أ

* كل قيمة في الجدول تمثل معدل ثلاث مكررات .

** القيمة المتبوعة بحروف متشابهة بالعمود الواحد لا تختلف معنوياً حسب اختيار لنكن عند مستوى احتمال 0.05 .

جدول 3. أثر اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* على معدلات حاصل القطن ومكوناته .

المعاملة	وزن الجوزة (غم)			عدد الجوز/نبات			حاصل القطن الزهر (غم/نبات)		
	ج (1)	ج (2)	المعدل	ج (1)	ج (2)	ج + ج ²	ج (1)	ج (2)	ج + ج ²
المقارنة	3.6 ب	3.7 أ	3.7 ب	3.6 ب	2.5 أ	6.1 ب	77.7 أ	52.4 أ	130.1 ب
اللقاح البكتيري <i>P. fluorescens</i>	4.7 ب	4.6 أ	4.7 أ	6.4 أ	3.1 أ	9.5 أ	144.9 أ	80.7 أ	225.6 أ

* ج 1 : الجنية الأولى ، ج 2 : الجنية الثانية .

** كل قيمة في الجدول تمثل معدل ثلاث مكررات .

*** القيمة المتوقعة بحروف متشابهة بالامامود الواحد لا تختلف معنويًا حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمال 0.05

المصادر

- 1- الجميلي ، سامي عبد الرضا علي . 1996 . المقاومة المتكاملة ضد الإصابة بالفطر *Aspergillus's flavus* والتسبب بالسم أقلًا توكسين B1 في حاصل فستق الحقل . أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة - جامعة بغداد .
- 2- الراوي ، فاشم وعبد العزيز محمد خلف الله . 1980 . تصميم وتحليل التجارب الحقلية . 488 صفحة دار للطباعة والنشر ، جامعة الموصل .
- 3- إلهياني ، أياد عبد الواحد ، محمد عامر فياض وعلي سامي أنالبي . 1996 . تطبيق تقنية التلقيح البكتيري بالـ *Pseudomonas fluorescens* على نبات الرز وتأثيرها على القدرة الإنتاجية . مجلة أباء للأبحاث الزراعية 6 (1) : 71-83 .
- 4- عبد علي ، حكمت ومجيد حسن الأنصاري . 1980 . محاصيل الألياف 237 صفحة . دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل .
- 5- وزارة الزراعة والري والهيئة العامة للخدمات الزراعية . 1992 . القطن ، خطوات زراعته وخدمته المحصول ببغداد .
- 6- Boddey , R.M.VL -Baldani , II.Baldani and J. Doeener.1986. Effect of inoculation of Azospirillum spp. on nitrogen accumulation of field grown wheat. Plant and Soil 95:109-121.
- 7- Burr, J.J, M.N., Schroth and T.Suslow .1978. Increased potato yield by treatment of seed pieces with specific strain of *Pseudomonas fluorescens* and putida. Phytopathology.68:1377-1383.
- 8- Chapman. H.d. and P.F. Partte. 1961. Method of analysis of soil plants and water. Univ. of Calif. Div. of Agrisci.
- 9- Cresser, M.S.and G.w. Parsons .1979. Sulphuric perchloric acid digestion of plant material for the determination and nitrogen phosphorous, potassium, calcium and magnesium Analytica Chemicla Acta, 109:431-436.
- 10- Gamliel, A. and J.Katan.1993. Suppression of major and minor pathogens by *Pseudomonas fluorescens* in solarized and non solarized soil .Phytopathology 83:68-75
- 11- Kapulnk, Y.Gafny and Y.Okon .1985. Effect of Azospirillum spp. inoculation of root development and No.3 uptake in water (*Triticum aestivum* cv .Miram) in hydropoinc system. Can.J. Bot. 63:627-631.
- 12- Keen,N.T. and B.W. Kennedy. 1974. Hydroxyphaseollin and related isoflavanoids in the hypersensitive resistan response of soybeans against *Pseudomonas glycinea*. Physiol. Plant pyathol. 4:173-185
- 13- Keen, N.T. 1978. Phytoalexins efficient extraction from leave a facilitated diffusion technique . Phytopathology.68:1237-1239
- 14- Leeman.M.,F.M. Denouden, J.A.Vanpelt ,F.P.M Dirkx, H.Steijl, P.A.H.M Bakker and B.Schipper. 1996. Iron availability affect induction of systemic resistance to fusarium wilt of radish By *pseudomonas fluorescens* Phytopathology 86:149-155.
- 15- Scheffelen, A.C., A. Muller and J.G. Vanschovenbury . 1961. Quick test for soil and plant analysis used small laboratories. Neth. J.Agric. Sci. 9:2-16

223. in Mount ,M.S. and G.H. Lacy, Ptophyathoiogh. Vol.I.
- 19- Suslow, T.V. and M.N. Schroth . 1982. Role of deleterious rhizobacteria as miner pathogens in reducing crop growth . Phytopathology. 72:111-115
- 20- Vanpeer, G.J., R., Niemann, and B. Schippers, 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of fusarium wilt of carnation pseudomonas sp.strain WCS417r. Phytopathology81:728-733.
- 16- Scher, F.M., and Baker. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and axsynthetic iron chelator on induction of suppressiveness to fusarium wilt pathogens. Phytopathology.72:1567-1573.
- 17- Schroth, M.V. and J.G. Han cock. 1982. Disease suppressive soils and roots colonizing bacteria. Science 216: 1376-1381.
- 18- Suslow, T.V. 1982.Role of root colonizing bacteria in plant growth 187-